Hormonanalytische und vaginalzytologische Untersuchungen bei der Behandlung klimakterischer Ausfallserscheinungen mit dem 3-Zyklopenthyläther des Äthinylöstradiols

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Klaus Dunkmann

Saarbrücken

1970

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus der Universitäts-Frauenklinik Homburg-Saar
(Direktor: Professor Dr. med. H. Limburg)

Hormonanalytische und vaginalzytologische Untersuchungen bei der Behandlung klimakterischer Ausfallserscheinungen mit dem 3-Zyklopenthyläther des Äthinylöstradiols.

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1970

vorgelegt von

Klaus Dunkmann

geb. am 26.7.1942 in Hagen/Westfalen

Dekan: Professor Dr. Dhom
Referent: Professor Dr. Heinen

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 16. 10. 1970 abgelegt.

Meinen Eltern und meiner Braut

in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	4
II.	Themastellung	23
III.	Untersuchungsgut und Methodik	24
	A. Hormonanalysen	24
	1. Gesamtgonadotropinbestimmung (TGA) im Harn	24
	2. Modifizierte Bestimmung der Gesamtöstrogene im Harn nach ITTRICH	30
	B. Hormonale Zytodiagnostik	32
IV.	Ergebnisse	35
V.	Diskussion der Ergebnisse	47
VI.	Zusammenfassung	55
VII.	Schrifttum	56

I. Einleitung

Physiologie der Hormone im Klimakterium und Senium der Frau.

Unter dem Begriff "Klimakterium" versteht man heute die Zeit des Hinüberwechselns (Wechseljahre) aus der Phase der Geschlechtsreife der Frau in die Zeit des Seniums (8, 27). Etwa in die Mitte dieser Zeit fällt die Menopause, der Zeitpunkt der letzten Regelblutung, dem die Praemenopause vorangeht und die Postmenopause folgt (Abb. 1).

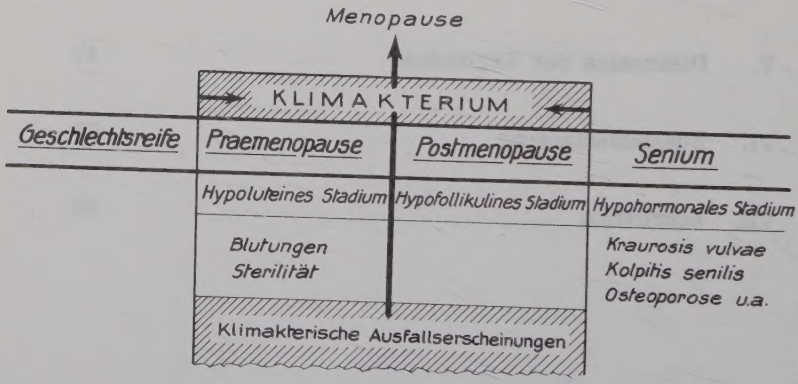


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Symptomatologie im Klimakterium und Senium.

Da mitunter die Menstruationen gegen Ende der Praemenopause in längeren Abständen auftreten (Abstände bis zu einigen Monaten), definiert man die "letzte Regelblutung" als diejenige, auf die ein einjähriges amenorrhoisches Zeitintervall folgt.

Die Praemenopause beginnt mit einem Nachlassen der hormonellen Ovarialfunktion. Es kommt nur noch zu ungenügender Ausreifung der Follikel, regelmäßige Ovulationen unterbleiben. HAUSER und WENNER (18) bezeichnen diese Phase infolge Mangels an Corpus luteum-Hormon (Progesteron) als "hypo- oder aluteines Stadium des Klimakteriums". Die Östrogenbildung wird ebenfalls allmählich schwächer, ist zeitlich und quantitativ nicht mehr koordiniert, wodurch es hinsichtlich Länge und Dauer zu unterschiedlich starken Blutungen kommen kann. Sinkt schließlich die Östrogenproduktion unter ein bestimmtes Minimum, so reicht die vorhandene Konzentration nicht mehr zur kritischen Proliferation im Sinne der notwendigen Abstoßung des Endometriums aus: Die Blutungen sistieren.
Der Zeitpunkt der Menopause ist erreicht.

In der Postmenopause werden daher auf Grund mangelnder Follikelreifung und kontinuierlicher Abnahme der ovariellen Östrogenbildung normalerweise keinerlei Blutungen mehr beobachtet. Man bezeichnet die Postmenopause deshalb auch als

"hypofollikulines Stadium des Klimakteriums".
Die Postmenopause endet, wie im einzelnen später ausgeführt wird, mit der Anpassung des Genitales, des Neurovegetativums und schließlich des Gesamtorganismus an die durch den Ausfall der Keimdrüsen entstandene hormonale Situation.

Das Senium oder das "hypohormonelle Stadium" beginnt.
Eine allgemeine Atrophie wird für diesen Lebensabschnitt kennzeichnend. Diese Abbauvorgänge sind besonders an den Organen ausgeprägt, deren Funktion und Stoffwechsel in primärer Abhängigkeit zu den Sexualhormonen steht.
Hierzu gehören nicht nur die Sexualorgane einschließlich der Brustdrüsen, sondern auch das Knochengewebe, das mangels des anabolen Reizes der Östrogene einer Osteoporose anheimfällt. Die ersten Veränderungen, hervorgerufen durch die nachlassende Ovarialfunktion, betreffen allerdings das entsprechende hormonelle Regulationssystem, nämlich die Funktionsachse Zwischenhirn-Hypophyse-Gonaden.
Die vom Ovar gebildeten Steroide haben ihren zentralen Angriffspunkt im sogenannten "Sexualzentrum", das im Tuber cinerum des Zwischenhirns lokalisiert wird (26). In diesem Abschnitt des Hypothalamus werden offenbar mehrere Substanzen gebildet, die als Gonadotropin-Freisetzer oder "releasing factors" bezeichnet und dem Begriff Hypophysiotropine untergeordnet wer-

den. Sie fungieren als Reizüberträger über das Infundibulum oder über die Aortalgefäße auf den Hypophysenvorderlappen (45).

Dieser neurohormonale Funktionskreis des Hypophysen-Zwischenhirn-Systems reagiert rasch auf den verminderten Sexualhormonspiegel.

Der Ausfall der Progesteronbildung und die Reduzierung des Östrogenspiegels wird im Sinne des Rückkkopplungsmechanismus mit einer ansteigenden hypophysären Gonadotropinsekretion beantwortet.

Die Vermutung, daß es sich hierbei um ein eigenständiges, sog. Menopausengonadotropin handelt, ließ sich nicht bestätigen, vielmehr zeigte sich, daß sowohl FSH als auch LH in bestimmten Relationen vermehrt ausgeschieden werden. Möglicherweise spielen jedoch geringe molekulare Veränderungen der genannten Gonadotropine eine Rolle.

Die Ursachen dafür, daß die Ovarien trotz gleichen Alters mit der Schilddrüse und den Nebennieren im Gegensatz zu diesen nicht mehr auf die erhöhte Hypophysenhormonausschüttung ansprechen, sind noch weitgehend unbekannt.

Morphologisch zeigen die Ovarien im Klimakterium recht frühzeitig typische Veränderungen.

Sie schrumpfen und verlieren schon vom 40. Lebensjahr ab stetig an Gewicht. Parallel damit geht der Abbau der Funktionen vonstatten. Es kommt zu Follikelpersistenzen und einer Häufung anovulatorischer Zyklen.
Am Ende der Praemenopause findet man zwar noch Follikel aller Entwicklungsstufen, aber keine Corpora lutea mehr, nicht einmal Rückbildungsstadien derselben.
In der Postmenopause finden sich lediglich Primärfollikel ohne Tendenz zur Ausreifung.

GOECKE (15) vermutet, daß nicht das Alter der Keimdrüsen, sondern das Alter des Organismus für die Funktion der Ovarien entscheidend ist und daß möglicherweise zwischen dem Hypophysenvorderlappen und den Ovarien ein bisher unbekanntes Prinzip eingeschaltet ist, welches in der Geschlechtsreife vorhanden, im jugendlichen Organismus noch nicht und beim senilen nicht mehr vorhanden ist.

Prae- und Postmenopause dauern im Durchschnitt je 6 Jahre, wobei der Zeitpunkt der Menopause nach einer Statistik von DÖRING (27, 37) in Mitteleuropa bei 49,3 Jahren liegt (siehe Abb. 2), wobei naturgemäß große Abweichungen möglich sind.

Demnach kann der Beginn des Klimakteriums auf Grund des

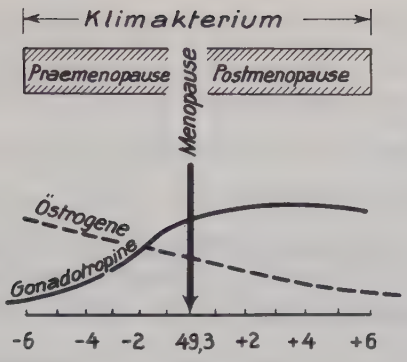


Abbildung 2: Nomenklatur des Klimakteriums mit dem Verhalten der Östrogen- und Gonadotropinausscheidung (nach KAISER und DAUME (27)).

Gonadotropinanstieges und des Östrogenabfalles auf Anfang bis Mitte des 40. Lebensjahres festgelegt werden (22, 37).
Die Relationen der Hormonausschüttung in Bezug zur Menopause sind gleichfalls in der Abb. 2 dargestellt.

Durch das gestörte hormonale Gleichgewicht kann es zu den sogenannten Ausfallserscheinungen oder besser zum "klimakterischen Syndrom" kommen (23, 42).
Unter diesem Begriff versteht man Beschwerden, die in Abhängigkeit von der Involutionsphase der Frau auftreten können.

Bei der Vielfalt der klimakterischen Störungen erscheint es sinnvoll, zwischen extragenitalen und genitalen Symptomen zu unterscheiden.

1. Extragenitale Symptome

   a) Kardiovaskuläre Störungen, wie z.B. Kopfschmerzen, Schwindel, Herzklopfen, stenokardieähnliche Anfälle, Hitzewallungen usw.

   b) Endokrine Symptome, wie z.B. Funktionsstörungen der Nebennierenrinde und der Thyreoidea.

   c) Stoffwechselstörungen, wie z.B. Gewichtsveränderungen, Arteriosklerose, Osteoporose, Arthropathien und andere Erkrankungen.

   d) Psychische Symptome, wie z.B. Reizbarkeit, Nervosität, Konzentrationsschwäche, Angstgefühl und depressive Reaktionen.

2. Genitale Symptome

Z.B. Störungen der Menstruationsblutungen, Involution der Geschlechtsorgane, Kraurosis vulvae und Kolpitis senilis.

Die früher herrschende Auffassung, das klimakterische Syndrom sei eine Folge der veränderten Gonadotropinausschüttung, wurde schon 1944 von HELLER et al. (20) widerlegt. Nach heutiger Ansicht werden die Beschwerden primär durch den Östrogenmangel, der eine Störung des vegetativen Gleichgewichtes im

Zwischenhirnsystem auslöst, hervorgerufen (5, 9).

Wie dargestellt, ist das Menopausensyndrom sehr vielgestaltig und zudem stark von individuellen Faktoren abhängig.
Daraus erklärt sich auch die Mannigfaltigkeit möglicher Behandlungsmethoden wie Psychotherapie, Balneotherapie, Sedativa und Psychopharmaka, die im Einzelfall günstige Erfolge haben (24, 47).
Schwere Ausfallserscheinungen jedoch erfordern die Behandlung mit Sexualsteroiden, wobei die Therapie mit Östrogenen im Vordergrund steht.
Hierbei erweist sich die Unterteilung in Prae- und Postmenopause für die einzuleitende Therapie von grundlegender Bedeutung (19).

In der Praemenopause normalisiert eine zyklusgerechte Östrogen-Gestagen-Therapie die Regelfolge und verhindert dysfunktionelle Blutungsstörungen und Ausfallserscheinungen.
Bei Ausfallserscheinungen in der Postmenopause hat sich die alleinige Behandlung mit Östrogenen bewährt.
Die heute noch teilweise propagierte Behandlung mit Androgenen oder mit einem Androgen-Östrogen-Gemisch sollte verlassen werden, da diese nicht selten Virilisierungserscheinungen bedingt und eine genaueste individuelle Behandlung erfor-

derlich macht, welche durch die vorwiegend parenterale Verabreichung dieser Mischpräparate nur unvollkommen sein kann.

Der Gedanke, die nachlassende Ovarialfunktion im Klimakterium zu substituieren, ist nicht neu. Aber weder die Implantation von Eierstocksgeweben (CHROBAK 1896 (13)) noch die Verabreichung von Ovarialextrakten überzeugten. Die Therapie mit reinen Östrogenen (1932) scheiterte vor allem an der zu stark proliferativen Wirkung auf das Endometrium, so daß häufig Hyperplasie- und/oder Entzugsblutungen die Folge sind.

Auch die Depotbehandlung mit Östrogenen in Kristall- oder Ölsuspensionen sollte heute wegen der schlechten Steuerbarkeit nicht mehr angewandt werden. Die nicht zu kontrollierenden Resorptionsverhältnisse bedingen einerseits Kumulationen, andererseits zu schnellen Wirkungsverlust und führen auch hier häufig zu Blutungen, die bei Frauen in der Postmenopause stets den Karzinomausschluß in Form einer diagnostischen Abrasio erforderlich machen.

1938 gewannen INHOFFEN und HOHLWEG das erste oral wirksame Östrogen, das Äthinylöstradiol, indem sie Azetylen an das seit 1929 durch DOISY und BUTENANDT isolierte Östron anlagerten (in: PSCHYREMBEL (37)).

1942 führte man in den USA die konjugierten Östrogene, d.h. mit Glucuron- und Schwefelsäure verbundenen Östrogene ein.

Da sie zum Teil Endprodukte des Östrogen-Stoffwechsels im Organismus darstellen, zum andern aber auch noch aktive Komponente enthalten, sollen sie auf das Endometrium "weicher", also nur geringer proliferierend wirken.

HEINEN und SIEGEL (19) zeigten, daß der Proliferationsgrad des Endometriums im wesentlichen ein quantitatives Problem ist.

Die Bemühungen um die Entwicklung eines synthetischen, exakt dosierbaren und leichter zu handhabenden Östrogens zur Therapie der Östrogen-Mangelzustände sind bis heute noch nicht zum Abschluß gekommen. Ein derartig synthetisches Östrogen stellt der 3-Zyklopenthyläther des Äthinylöstradiols (Abb. 3) (Quinestrol, Estrovis (R), Gödecke, Freiburg) dar.

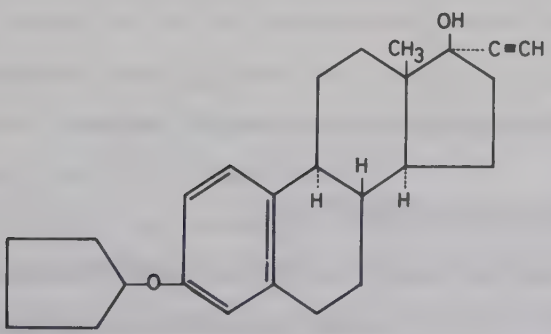


Abbildung 3: Strukturformel von Quinestrol (Estrovis (R)).

Die Einführung der Zyklopenthylgruppe in das Äthinylöstradiol-Molekül soll die lipophilen Eigenschaften dieser Verbindung bei weitgehend erhaltener H_2O-Löslichkeit steigern. Eine anfängliche Speicherung von Quinestrol in den Körperfettdepots und die darauf folgende langsame Freisetzung könne eine verlängerte östrogene Wirkung dieser Substanz erklären und theoretisch während einer 7tägigen Medikationspause ein Beschwerderezidiv verhindern.
Im Gegensatz zu Äthinylöstradiol soll Quinestrol in den therapeutisch wirksamen Substitutionsdosen nur eine minimale Proliferation am Endometrium hervorrufen.

Die bisherigen klinischen Erfahrungen mit Quinestrol zeigten eine gute Beeinflußbarkeit des klimakterischen Symptomenkomplexes bei allgemein guter Verträglichkeit (17, 34, 43, 51).

Ganz allgemein lassen sich die Wirkungen eines Östrogens beim Menschen durch folgende Untersuchungen erfassen:

1. Wirkung auf das Endometrium

   Östrogene rufen am Endometrium eine Proliferation der Funktionalisschicht hervor, die entweder direkt histologisch oder nach Transformation durch Gestagene beurteilt werden kann.

2. Wirkung auf das Vaginalepithel

Schon kleine Mengen von Östrogen rufen bei Frauen mit atrophischem glykogenarmem Scheidenepithel eine typische Proliferation hervor, die eine Testung bezüglich der Intensität und Wirkungsdauer möglich macht.

3. Wirkung auf die Gonadotropine

Durch quantitative Gonadotropinbestimmungen und den Ovulationshemmtest bestimmt man die antigonadotrope Wirkung der Östrogene.

Die Beurteilung der Östrogenwirkung am Endometrium gestaltet sich aus technischen Gründen sehr schwierig. Besonders bei Verlaufsuntersuchungen bei ein- und derselben Probandin kann nicht gewährleistet werden, daß repräsentative Gewebsstücke gewonnen werden.

Technisch einfacher und der Probandin zuzumuten ist die Serienuntersuchung der Scheidenschleimhaut.

Die Grundlagen der hormonalen Zytodiagnostik bilden die aus dem Vaginallumen abgeschilferten Epithelzellen, die mittels eines Scheidenabstriches entnommen werden.

Das Scheidenepithel unterliegt hormonellen Einflüssen, welche zu charakteristischen Epithelproliferationen, Plasma-Anfärbungen

und Kernpyknosen führen.

Am normal proliferierten Scheidenepithel lassen sich in vereinfachender Weise 4 Zellgruppen unterscheiden (Abb. 4):

1. Basalzellen
2. Parabasalzellen
3. Intermediärzellen
4. Superficialzellen

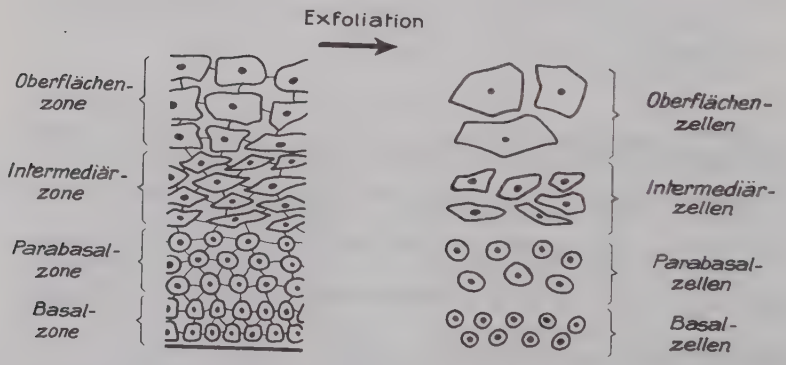


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Zytoarchitektonik des Vaginalepithels und der Vaginalepithelien nach der Exfoliation.

Während der Geschlechtsreife der Frau zeigt das Scheidenepithel zu jedem Zeitpunkt des Zyklus ein für die hormonale Situation typisches Bild.

So finden wir auf dem Höhepunkt der Follikelphase großflächige, einzeln liegende, eosinophile Superficialzellen mit teilweise pyknotischem Kern, während in der Corpus luteum-Phase in Gruppen liegende, basophile, gefältete Zellen mit verminderter Proliferationshöhe und bläschenförmigem Kern das vaginale Zellbild beherrschen.

Im Klimakterium dagegen, wenn die Ovarialtätigkeit nachläßt, finden wir nur noch mangelhafte Proliferationen verschiedenen Grades.

Nach LIMBURG (29) kann man die verschiedenen Zellbilder in der Postmenopause in 3 Gruppen einteilen:

1. Oberflächlicher Epitheltyp mit relativ hoher Proliferation bis in die Schichten der Intermediär- bzw. Superficialzellen und mit teilweiser Eosinophilie.
2. Mischtyp, der Zellen aller 4 Schichten enthält.
3. Atrophischer Zelltyp, wobei eine kleinkernige oder auch eine großkernige Atrophie bestehen kann.

Mittlere Proliferationsgrade können sich auch unter der Einwirkung von Androgenen und Gestagenen herausbilden. Das Problem einer Ausreifung des Vaginalepithels unter dem Einfluß von Androgenen gewinnt in der Postmenopause insofern Bedeutung, als diskutiert wird, daß die Biogenese von Steroiden

in den Ovarien in diesem Lebensabschnitt offenbar nicht in ausreichender Weise bis zu den Östrogenen vollzogen wird, sondern zumindest teilweise auf der Schwelle der Androgene stehenbleibt.

Offensichtlich besteht keine Korrelation zwischen der Hormonausscheidung, dem vaginalen Zellbild und dem Ausmaß der klimakterischen Ausfallserscheinungen (21, 50).

Für eine Übersichtsdiagnose zur Schätzung hormonaler Einflüsse auf das Vaginalepithel reicht die Einteilung in verschiedene Proliferationsgrade (s. Abb. 5).

Für eine genauere Diagnose des Hormonstatus müssen allerdings noch andere Kriterien herangezogen werden:

1. Reifungsindex

   %-Anteile der 4 Zellgruppen zu den Gesamtzellen.

2. Superficialzell-Index

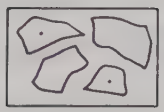
   %-Anteil der Superficialzellen und großer Indermediärzellen zu den Gesamtzellen.

3. Eosinophilie-Index

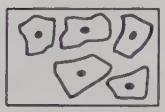
   %-Anteil der eosinophilen Superficialzellen.

4. Karyopyknose-Index

   %-Anteil der Kernpyknosen der Superficialzellen.



Vermehrter Östrogeneffekt
(Oberflächenzellen, Epithelschollen)



Guter Östrogeneffekt
(Oberflächenzellen)

Geringer Östrogenmangel (Mischtyp)
(Oberflächen-, Intermediär- u. Parabasalzellen)

Mittlerer Östrogenmangel
(Intermediärzellen)

Starker Östrogenmangel (Atrophie)
(Basal- u. Parabasalzellen)

Abbildung 5: Schematische Darstellung zur Schätzung der Östrogenaktivität im Vaginalsmear.

Hierbei erfassen der Karyopyknose-Index und der Eosinophilie-Index offenbar reine Östrogenwirkungen, während der Reifungs-Index und Superficialzell-Index von verschiedenen Stimulatien abhängen kann.

Gegenüber der recht einfachen Technik der Smearentnahme und -beurteilung erweist sich die quantitative Gonadotropinbestimmung als ausgesprochen aufwendig.

In den Jahren 1926 und 1927 konnten ASCHHEIM und ZONDEK (6, 7) zeigen, daß im Hypophysenvorderlappen Substanzen enthalten sind, die bei unreifen Mäusen am Geschlechtstrakt verschiedene Reaktionen bewirken. Als weiteres Kriterium fand ZONDEK (52), daß diese Substanzen nur über die Gonaden wirkten, da bei kastrierten Tieren die Reaktion ausblieb.
Hieraus leitet sich der Name "gonadotrope Hormone" oder "Gonadotropine" ab.

Heute unterscheiden wir im Komplex der hypophysären Gonadotropine, die Glykoproteide sind, im wesentlichen folgende Komponente:

1. FSH (Follikel-stimulierendes Hormon, früher auch als Prolan A bezeichnet)

Es bewirkt das Wachstum der Ovarialfollikel, die Reifung von Theka und Granulosa und die Bildung von Follikelflüssigkeit. Beim Manne stimuliert es die Spermiogenese in den Sertoli-Zellen. Der spezifische Nachweis von FSH erfolgt im sogenannten HCG-Augmentationstest nach STEELMAN und POHLEY (46) für Ratten oder nach BROWN (11) für Mäuse.
Diese Tests beruhen auf der Tatsache, daß HCG die Wirkung von FSH auf das Ovar "verstärkt".

2. LH = ICSH (Luteinisierendes oder die interstitiellen Zellen stimulierendes Hormon, früher als Prolan B bezeichnet)

Es bewirkt gemeinsam mit FSH an der Theca interna folliculi die Östrogenbildung, ist an der Induktion der Ovulation beteiligt und wandelt die Granulosazellen in Luteinzellen um. Beim Manne werden die Aktivität der Leydig-Zellen und die Androgenbildung angeregt.

Der spezifische Nachweis für LH erfolgt durch Messung des Gewichtsanstieges des ventralen Prostatalappens von hypophysektomierten unreifen männlichen Ratten (HRP-Test nach GREEP et al. (16) und LORAINE und DICZFALUSY (31)) oder durch Messung der Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Ovarien von intakten unreifen pseudoschwangeren Ratten (OAAD-Test nach PARLOW (36) und McCANN und TALEISNIK (33)). Die letztere Methode soll weitaus empfindlicher sein.

3. LTH (luteotropes Hormon oder Prolactin)

Es steuert die Entwicklung des Gelbkörpers und seine inkretorische Funktion. Außerdem soll es für die Progesteronbildung mitverantwortlich sein (28, 48, 49).

Die im Urin ausgeschiedenen Gonadotropine können aber auch in ihrer Gesamtheit bestimmt werden und zwar mit Hilfe des

Maus-Uterus-Testes (3, 32), der sich als weniger aufwendig erweist als die spezifischen Teste für FSH und LH. Diese Methode ist bei allen Einschränkungen gerade in der Menopause zur groben Bestimmung des sogenannten HMG geeignet.

Um die östrogene Wirksamkeit von Quinestrol genauer zu definieren, erschien es interessant, das Verhalten des Vaginalepithels und der Gesamtgonadotropine unter verschiedenen Dosierungen an einem geeigneten Kollektiv zu untersuchen.

II. Themastellung

Auf Grund der beschriebenen hormonellen Situation im Klimakterium schien es interessant, den oben erwähnten Zyklopenthyläther des Äthinylöstradiols auf seine antigonadotrope Wirkung und gleichzeitig das Proliferationsverhalten des Scheidenepithels zu untersuchen.

III. Untersuchungsgut und Methodik

Bei insgesamt 22 Patientinnen im Alter zwischen 40 und 70 Jahren, die alle über klimakterische Ausfallserscheinungen klagten, haben wir Quinestrol (= Estrovis(R)) kontinuierlich in einer täglichen Dosierung von 25 γ über durchschnittlich 16 Wochen und später in einer Dosierung von 100 γ über durchschnittlich 8 Wochen angewandt und schließlich 50 γ über durchschnittlich 4 Wochen. Besonders geachtet wurde darauf, daß die Patientinnen an keiner manifesten Stoffwechselstörung litten und während der Hormonanalysen unter keiner zusätzlichen Therapie standen.

Vor Beginn der Therapie wurde von jeder Patientin ein Vaginalabstrich entnommen und stationär 3 x 24 Std.-Katheterurin gesammelt. Die Patientinnen wurden dann alle 20 bis 30 Tage zur ambulanten Smearentnahme einbestellt. Nach Abschluß einer Dosierungsperiode wurde wieder eine Urinsammlung (2 x 24 Std.-Katheterurin) zur Hormonanalyse vorgenommen.

A. Hormonanalysen

1. Gesamtgonadotropinbestimmung (TGA) im Harn (3, 4, 10, 12).

a) Aufbereitung des Urins

Die 24 Std.-Menge des Urins wird mit konz. Essigsäure auf pH 4,0 eingestellt.

Dann wird 1 M Citratpuffer pH 4,0 beigegeben und zwar in 1 % der Urinmenge.

Der Zeitraum zwischen Sammeln und weiterer Aufarbeitung des Urins betrug nicht mehr als 2 Wochen. Während dieser Zeit wurde der vorbehandele Urin im Kühlschrank bei + 4° C aufbewahrt.

b) Aufarbeitung des Urins

Eine Glassäule (Ø 4 cm, Höhe 80 cm) wird mit Permutit (Merck, Nr. 9429) im Gewichtsverhältnis von 4 % zur Urinmenge gefüllt. Durch kontinuierlichen Durchfluß (4 ml/min) des Urins werden die Gonadotropine am Permutit adsorbiert. Danach erfolgt die Trocknung der Säule durch Preßluft. Die Elution der Gonadotropine erfolgt mit 200 ml Ammoniumacetat in Äthanol (111 g Ammoniumacetat in 1000 ml 35%igem Äthanol). Wesentlich ist auch hierbei ein kontinuierlicher Durchfluß (4 ml/min) zwecks vollständiger Elution.

Das Eluat wird mit 400 ml Aceton versetzt und gut geschüttelt. Danach ist eine Aufbewahrung des Gemisches über 24 Std. bei + 4° C im Kühlschrank erforderlich.

Anschließend wird das Gemisch bei 3000 U/min 3 Minuten zen-

trifugiert und der Niederschlag je 1mal mit Aceton und Äther nachgewaschen, wobei der jeweilige Überstand verworfen wird. Der im Exsikkator getrocknete Rückstand wird mit 5 ml physiologischer Kochsalzlösung 24 Std. bei + 4° C im Kühlschrank aufbewahrt, danach zentrifugiert und 2mal mit je 5 ml physiologischer Kochsalzlösung nachgewaschen. Die klaren Überstände werden vereinigt und als konzentrierte Lösung bzw. 1:3 und 1:9 verdünnt als Probe für den Maus-Uterus-Test verwandt.

c) Uterusgewichtsanstieg bei intakten unreifen weiblichen Mäusen (Maus-Uterus-Test) (1, 2, 3, 4)

Wir verwandten Albino-Mäuse (Stamm "CF_1 W 68") der Versuchstierzucht der Fa. Winkelmann, Kirchborchen. Die Fütterung der Mäuse erfolgte mit Haferflocken.

Intakten unreifen weiblichen Mäusen mit einem Gewicht von 9 bis 11 g wird an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 0,5 ml des zu testenden Materials subcutan injiziert (10, 30, 32). Am 4. Tag werden die Tiere getötet (Äther) und die Uteri sorgfältig herauspräpariert. Die Fixierung der Uteri erfolgt in Bouin'scher Lösung (15 Teile 1,2%ige Pikrinsäure, 5 Teile 30%iges Formalin, 1 Teil konz. Essigsäure) bis zum Auswiegen.

Nach gründlichem Trocknen der Uteri zwischen Filterpapier und Nachpräparieren der Uteri werden diese bis auf 0,1 mg

genau ausgewogen.

Pro Konzentration haben wir 4 Versuchstiere eingesetzt und zusätzlich pro Versuch jeweils 6 Kontrolltiere, die 0,5 ml physiologische Kochsalzlösung erhielten.

Die Gewichte der Erfolgsorgane (Uterus der Maus) wurden addiert und das arithmetische Mittel gebildet.

d) Ausrechnung

$$\frac{\text{Uterusgewicht (Testtiere)} - \text{Uterusgewicht (Kontrolltiere)}}{\text{Uterusgewicht (Kontrolltiere)}} \times \text{Verdünnungsfaktor} = \text{MUE (Maus-Uterus-Einheit)}$$

Die Umrechnung von Maus-Uterus-Einheiten in HMG-Einheiten erfolgte an Hand einer Eichkurve, die in einem gesonderten Versuch mit dem II. Interferenzpräparat (IRP) ermittelt wurde (1, 2, 39, 40, 41).

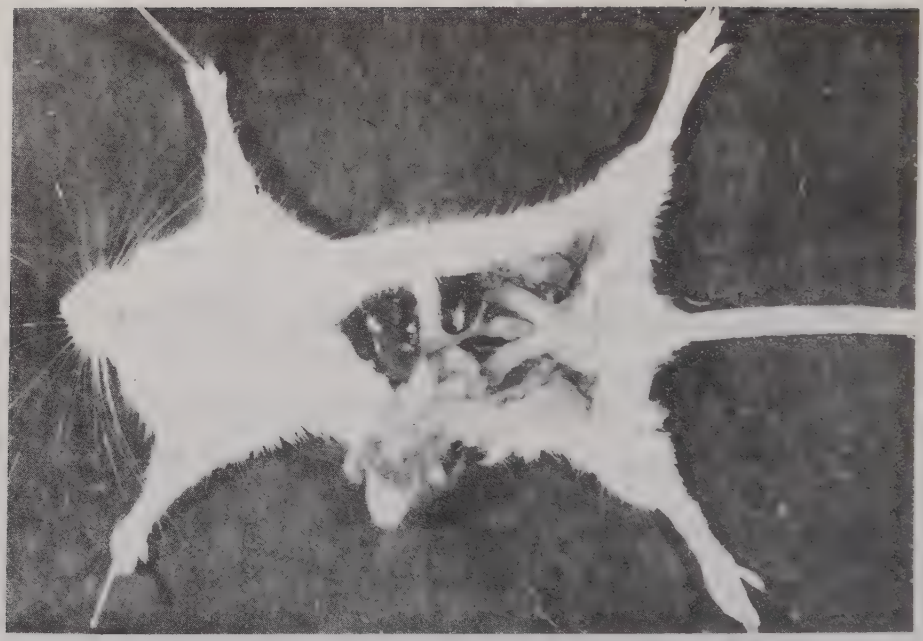


Abbildung 6: Situs einer behandelten weiblichen Maus.

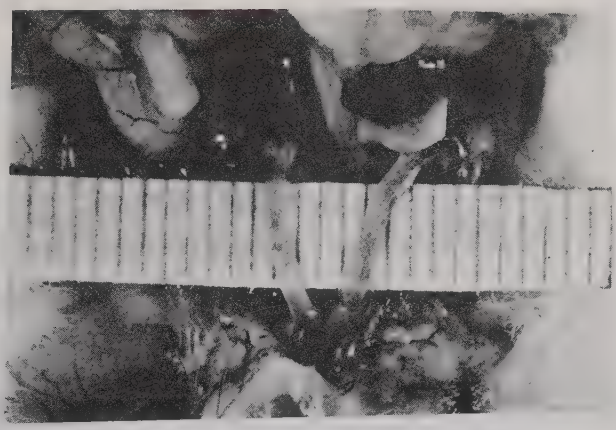


Abbildung 7: Uterus einer unbehandelten infantilen Maus.

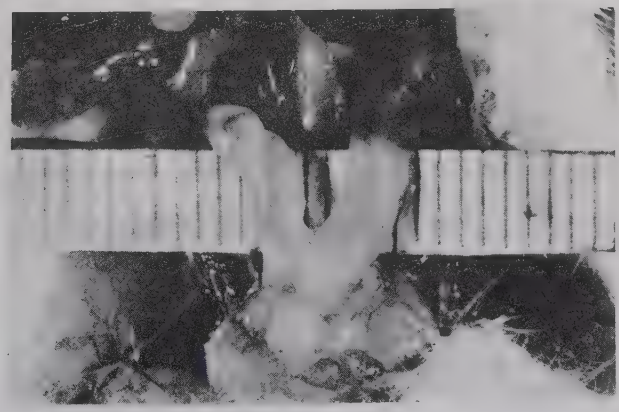


Abbildung 8: Uterus einer behandelten infantilen Maus.

2. Modifizierte Bestimmung der Gesamtöstrogene im Urin nach ITTRICH (25, 35, 47).

a) Hydrolyse

10 ml Urin werden mit 1 ml HCl (25 %) versetzt und im Wasserbad 30 Min. bei 100 ^{o} C hydrolysiert.
Anschließend wird das Hydrolysat in kaltem Wasser gründlich abgekühlt und mit 5 ml NaOH (25 %) alkalisiert.

b) Extraktion

Die alkalische Phase (I) wird mit 10 ml Benzol-Petroläther (1:1, v/v) 5 Min. geschüttelt. Die organische Phase wird dann zweimal mit je 5 ml NaOH (5 %) nachgewaschen (II und III). Die alkalischen Auszüge (I, II und III) werden vereinigt.

c) Reinigung und Abtrennung der phenolischen Steroide

Die alkalische Lösung wird nun mit 2,5 - 5 ml HCl (25 %) neutralisiert und mit Natriumbicarbonat auf pH 8,0 eingestellt. Die Östrogene werden mit 2 x 15 ml Diäthyläther extrahiert. Reinigung des Ätherextraktes mit 4 ml Natriumcarbonatpuffer (pH 10,0), anschließend mit 3 ml Ammoniumsulfat (8 %) und endlich zweimal mit je 2 ml H_2O. Danach wird der Ätherextrakt über Natriumsulfat getrocknet und mit 1 ml Hydrochinon in Alkohol (2 %) bis zur Trockne eingedampft.

d) Fluorometrische Bestimmung

Der Rückstand wird in 0,4 ml H_2O gelöst, dann mit 0,77 ml H_2SO_4 (96 %) versetzt und nach Verschließen der Röhrchen 40 Min. im siedenden Wasserbad gehalten, wobei man in den ersten Minuten einige Male vorsichtig schüttelt. Danach werden die Proben kurz in Wasser und dann mindestens 3 Min. in Eisbrei gekühlt.

Dann überschichtet man die Säurelösung mit 1,5 ml H_2O, kühlt wieder 3 Min. im Eisbad, schüttelt die Proben durch Umschwenken gut durch, kühlt abermals 3 Min. im Eisbad und unterschichtet dann das Reaktionsgemisch mit 2 ml einer eisgekühlten Lösung von p-Nitrophenol in Chloroform (2 %) und kühlt nochmals 3 Min.

Jetzt wird die Probe mindestens 20 Sek. geschüttelt und wieder gekühlt.

Bei unzureichender Trennung der Phasen wird etwa 5 Min. bei ca. 3000 U/min zentrifugiert und dann sofort gemessen.

Dabei wird die organische Phase im Photometer Eppendorf mit Fluoreszenzzusatz unter Verwendung des Primärfilters Hg 546 nm und eines Sekundärfilters 560 - 3000 nm analysiert, indem man die Fluoreszenz der Proben in 1 cm-Küvetten mit dem auf 100 Skalenteile eingestellten Östrogenfeststandard vergleicht.

e) Ausrechnung

Die Ausrechnung erfolgt nach der Formel

$$\frac{\text{Transmission Probe - Leerwert}}{\text{Transmission Test - Leerwert}} \times 10 \times \text{Urinmenge in Liter}$$

bzw. an Hand einer Eichkurve.

B. Hormonale Zytodiagnostik

Zu Beginn der Östrogentherapie wurde die hormonale Ausgangssituation des Scheidenepithels durch die Entnahme eines Scheidenabstriches bestimmt.
Unter der Therapie erfolgten in 20- 30tägigen Abständen weitere Abstrichentnahmen.

a) Technik der Abstrichentnahme zur hormonalen Zytodiagnostik

Nach Spekulumeinstellung wurde mit einem Watteträger Scheidensekret aus dem hinteren seitlichen Scheidengewölbe entnommen und auf zwei fett- und staubfreie Objektträger ausgestrichen, die sofort in einem Gemisch von 96 %igem Isopropylalkohol und Äther (1:1) fixiert wurden.
Nach einer Fixationsdauer von mindestens 2 Stunden (längeres Verbleiben darin schadet nicht) wurden die Abstriche nach ei-

ner modifizierten Färbung nach PAPANICOLAOU im Shandon-Färbeautomat gefärbt.

b) Modifizierte Färbung nach PAPANICOLAOU

1. 5 min in 80%igem Isopropylalkohol
2. 2 min in Harris' Haematoxylin-Lösung (Merck Nr. 9253)
3. Abspülen unter fließendem Leitungswasser
4. 3 min in Orange-G-Lösung (Merck Nr. 6887)
5. Abspülen in 80%igem Isopropylalkohol
6. 2 min in Polychrom-Lösung EA 50 (Merck Nr. 9272)
7. Abspülen in 80%igem Isopropylalkohol
8. Abspülen in 80%igem Isopropylalkohol
9. Abspülen in 95%igem Isopropylalkohol
10. 3 min in Alkohol-Xylol-Lösung (80 ml Xylol, 60 ml Isopropylalkohol 99,9%ig)
11. mindestens 5 min Xylol
12. mindestens 5 min Xylol (wobei das Präparat bis zu 48 Std. in der Xylol-Lösung verbleiben kann)
13. Eindecken mit Kanadabalsam, Caedax und dgl.

c) Auszählung der Smearbilder

Pro Indexbestimmung wurden jeweils 100 Zellen in verschiedenen Gesichtsfeldern ausgezählt.

Der Reifungsindex wurde durch Differenzierung in Superficial-, Intermediär-, Parabasal- und Basalzellen ermittelt.

Beim Kernpyknoseindex wurden Superficialzellen mit pyknotischem Kern zu Superficialzellen mit bläschenförmigem Kern in Relation gesetzt. Kerne, die sich unter Verlust der Kernstruktur tiefdunkelblau bis schwarz darstellten, wurden als pyknotisch beurteilt.

Dem Eosinophilieindex wurde der prozentuale Anteil der eosinophilen Superficialzellen an der Gesamtheit der Superficialzellen zugrunde gelegt.

IV. Ergebnisse

Bei dem vorliegenden Kollektiv von 22 Patientinnen wurden insgesamt 130 Hormonanalysen und 144 Vaginalabstriche ausgewertet (s. Tab. I und II).

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse ist in den nachstehenden Tab. I bis IV und Abb. 9 bis 15 wiedergegeben.

Die angegebenen Standardabweichungen (= s) sind nach der Formel (14)

$$s = \pm \sqrt{\frac{\overline{Z}\,(x - \bar{x})}{n - 1}}$$

errechnet, wobei

x = der jeweilige Probenwert

$\bar{x}$ = der arithmetische Mittelwert der Bestimmungsserie und

n = die Anzahl der untersuchten Proben

bedeutet.

Die Signifikanzen wurden mit Hilfe des "t-Testes" und des "Chi-Quadrat-Testes" ermittelt.

Tabelle I: Zusammenstellung der Hormonanalysen.

Patientinnen		Hormonanalysen		
Alter	Anzahl	vor Therapie	nach 25	nach 100
40-50	3	9	6	4
50-60	12	35	19	18
60-70	7	18	11	10
zus.	22	62	36	32
		zus.	130	

Tabelle II: Zusammenstellung der Smearentnahmen.

Patientinnen		Smearentnahmen			
Alter	Anzahl	vor Therapie	nach 25	nach 100	nach 50
40-50	3	1	12	5	1
50-60	12	12	36	19	11
60-70	7	9	22	12	4
zus.	22	22	70	36	16
		zus.	144		

Bei den 22 Frauen, die teilweise unter erheblichen Ausfallserscheinungen litten, zeigte sich in allen Fällen bei guter Verträglichkeit eine gute Beeinflußbarkeit des klimakterischen Symptomenkomplexes.

A. Gesamtgonadotropine

Die Bestimmung der Gesamtgonadotropine erfolgte, wie vorher beschrieben, mit Hilfe des Maus-Uterus-Testes (2, 3, 4). Die Ergebnisse sind in HMG-E/24 Std. angegeben und beziehen sich auf das II. Internationale Referenzpräparat (II. IRP).

1. Beurteilung des Gesamtkollektivs

(s. Abb. 9)

a) Als Ausgangswert vor Therapie ergab sich eine Ausscheidung von

12,0 ± 5,3 HMG-E/24 Std.

b) Die Hormonanalysen nach der 25 µg-Therapie zeigen einen signifikanten Abfall der Ausscheidung auf

6,4 ± 3,3 HMG-E/24 Std.
(p kleiner als 0,005)

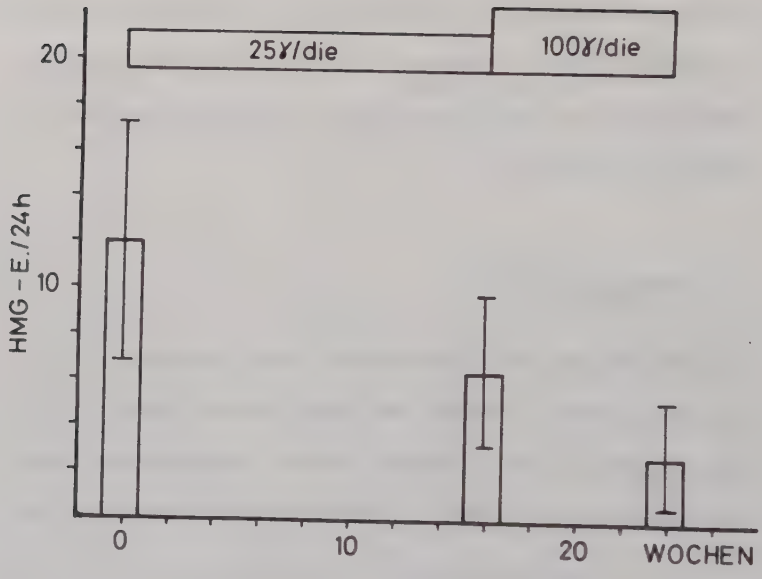


Abbildung 9: Gonadotropinausscheidung des Gesamtkollektivs.

c) Nach der Therapie von 100 ug fand sich eine weitere signifikante Abnahme auf

2,8 ± 2,3 HMG-E/24 Std.
(p kleiner als 0,005)

2. Beurteilung der einzelnen Altersgruppen

(s. Tab. III und Abb. 10)

Tabelle III: Gonadotropinausscheidung (in HMG-E/24 Std.).

Alter	vor Therapie	nach 25 µg Therapie	nach 100 µg Therapie
40-50	10,2 ± 5,3	4,7 ± 4,3	0,8 ± 0,7
50-60	12,5 ± 5,0	6,9 ± 2,8	3,5 ± 2,4
60-70	12,3 ± 5,9	6,6 ± 3,7	2,3 ± 2,1
Mittelwert	12,0 ± 5,3	6,4 ± 3,3	2,8 ± 2,3

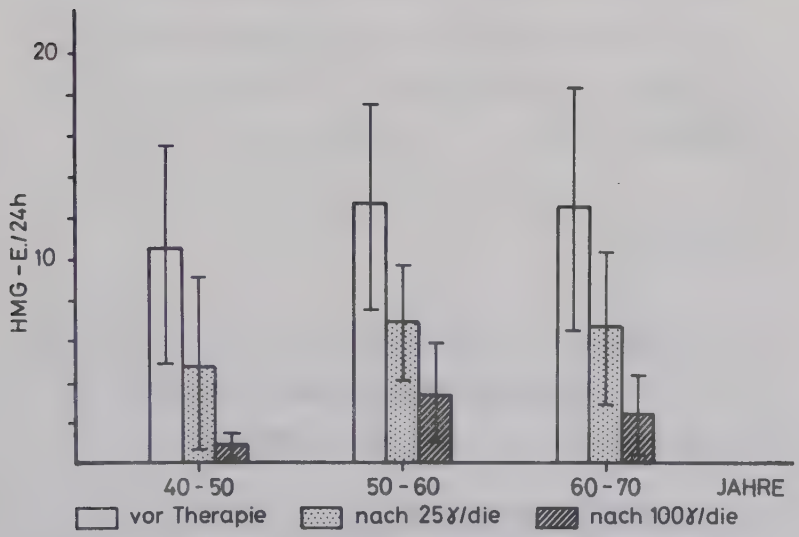


Abbildung 10: Gonadotropinausscheidung der einzelnen Altersgruppen.

a) Wie aus der Abb. 10 zu ersehen ist, liegen die Ausgangswerte vor Therapie bei allen Altersgruppen etwa gleich. Die genauen Werte sind der Tabelle III zu entnehmen.

b) Nach der Therapie von 25 µg sieht man bei allen Altersgruppen eine signifikante Abnahme der Gesamtgonadotropine um ca. 50 % (p kleiner als 0,005).

c) Diese Hemmung der hypophysären Gonadotropinausschüttung ließ sich durch die 100 µg-Therapie noch weiter verstärken. So findet sich nach dieser Therapie bei allen Altersgruppen eine Senkung der Gesamtgonadotropinausscheidung gegenüber den Ausgangswerten um ca. 75 % und gegenüber den 25 µg-Werten um ca. 50 % (p kleiner als 0,005).

B. Östrogene

Die Bestimmung der Gesamtöstrogene erfolgte wie beschrieben nach einem modifizierten Verfahren nach ITTRICH (25, 35). Die Ergebnisse sind in µg/24 Std. angegeben.

1. Beurteilung des Gesamtkollektivs

(s. Abb. 11)

Wie aus der Abb. 11 zu ersehen ist, bleibt die Östrogenausscheidung innerhalb des Gesamtkollektivs unter der Therapie

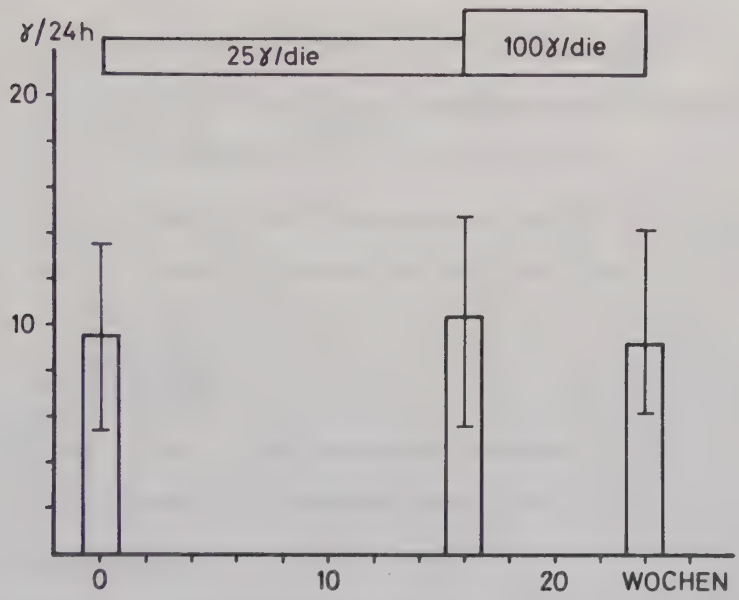


Abbildung 11: Östrogenausscheidung des Gesamtkollektivs.

unbeeinflußt.

2. Beurteilung der einzelnen Altersgruppen

(s. Tab. IV und Abb. 12)

a) Die Abb. 12 zeigt deutlich, daß die Ausscheidung der Östrogene im Alter signifikant abnimmt (p kleiner als 0,005).

Tabelle IV: Östrogenausscheidung (in µg/24 Std.).

Alter	vor Therapie	nach 25 µg Therapie	nach 100 µg Therapie
40-50	12,5 ± 5,2	9,4 ± 2,8	13,8 ± 2,3
50-60	10,1 ± 3,9	12,1 ± 5,5	9,9 ± 2,5
60-70	7,3 ± 2,9	7,1 ± 1,5	6,3 ± 1,3
Mittelwert	10,0 ± 4,0	9,5 ± 4,3	10,0 ± 3,0

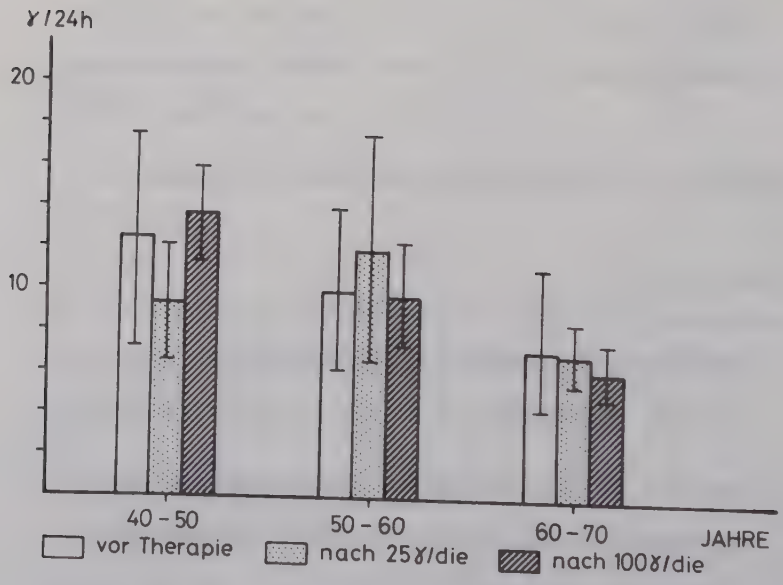


Abbildung 12: Östrogenausscheidung der einzelnen Altersgruppen.

Die Altersgruppe 40 - 50 Jahre hat einen Ausgangswert von 12,5 ± 5,2 µg/24 Std., der mit zunehmendem Alter bei den 60 - 70Jährigen auf 7,3 ± 2,9 µg/24 Std. abfällt.

b) Unter den verschiedenen Dosierungen ergibt sich keine signifikante Veränderung innerhalb der einzelnen Altersgruppen.

C. Vaginalzytologie

Insgesamt wurden 144 Vaginalabstriche entnommen (s. Tab. II) und nach folgenden Gesichtspunkten ausgewertet:

1. Reifungsindex (s. Abb. 13)

a) Vor Therapie finden wir folgende Ausgangswerte:

Basalzellen	36 ± 38,8
Parabasal-zellen	23 ± 20,5
Intermediär-zellen	34 ± 34,6
Superficial-zellen	7 ± 9,6

b) Nach Therapie finden wir eine deutliche Zunahme der Superficialzellen auf etwa 70 ± 15 %, während die Basal- und Parabasalzellen fast völlig verschwinden.

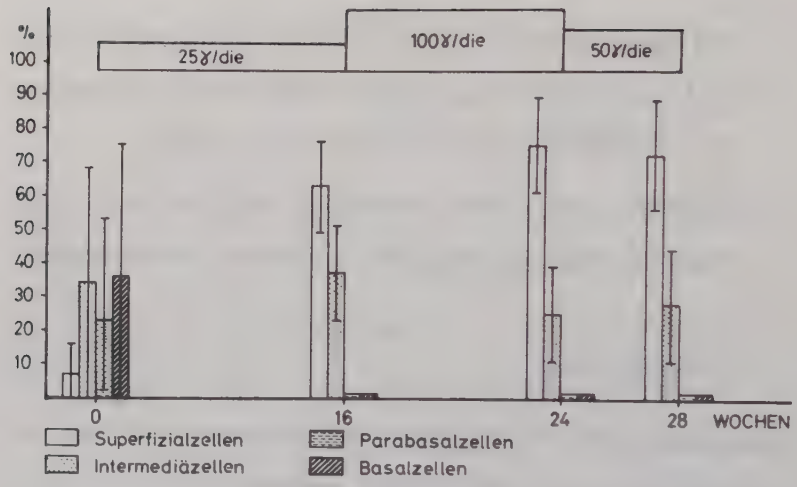


Abbildung 13: Reifungsindex

An Hand der vorliegenden Untersuchungen läßt sich ein Unterschied zwischen den einzelnen Dosierungen (25 µg, 100 µg, 50 µg) nicht feststellen.

2. Eosinophilie-Index (s. Abb. 14)

a) Vor Beginn der Therapie fanden wir in unserem Kollektiv nur vereinzelt eosinophile Zellen.

b) Nach der 25 µg-Dosierung zeigt sich ein leichter Anstieg, der bei der 100 µg-Dosierung deutlich wird und auch bei der 50 µg-Dosierung noch sichtbar ist.

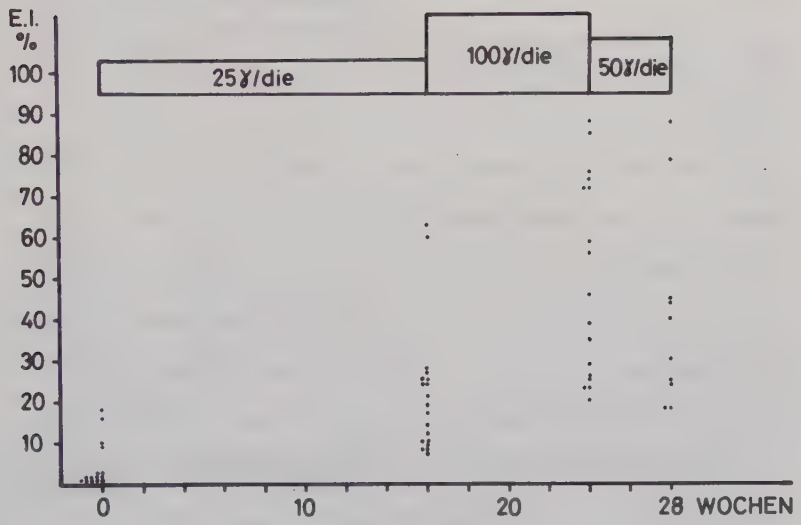


Abbildung 14: Eosinophilie-Index.

3. Pyknose-Index (s. Abb. 15)

a) Im Ausgangssmear finden sich fast keine pyknotischen Kerne in den spärlich vorhandenen Superficialzellen.

b) Ein leichter Anstieg zeigt sich nach der 25 µg-Dosierung. Bei der 100 µg-Dosierung sehen wir eine deutliche Zunahme, die aber unter der 50 µg-Dosierung wieder sichtbar abnimmt.

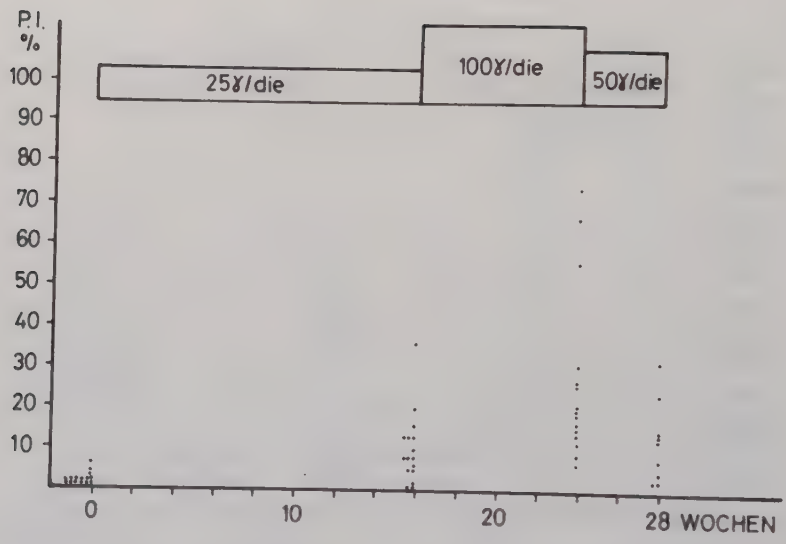


Abbildung 15: Pyknose-Index.

Abschließend sei hier festgestellt, daß unter der Therapie keinerlei atypische Zellbilder festgestellt wurden.

V. Diskussion der Ergebnisse

Vielfalt und Stärke klimakterischer Ausfallserscheinungen sind in der Lage, die Leistungsfähigkeit der betroffenen Frau gegebenenfalls stark einzuschränken. Dies ist in zweifacher Hinsicht bedeutungsvoll: Einmal geht es um das persönliche Wohlbefinden, dessen Wiederherstellung für den Arzt ein individuelles Problem darstellt. Zum andern muß die verminderte Leistungsfähigkeit der Frau auch aus volkswirtschaftlicher Sicht betrachtet werden. Eine Vielzahl der durch Ausfallserscheinungen betroffenen Frauen steht entweder aktiv im Berufsleben oder ist zumindest im Rahmen der Familie eine unentbehrliche Arbeitskraft.

Die Wege der Behandlung sind vorgezeichnet durch die Erkenntnisse der physiologischen Zusammenhänge. Der Mangel an eigenen Östrogenen muß von außen her substituiert werden. In welcher Form dies zu geschehen hat, ist abhängig von der Verträglichkeit des angewandten Präparates.

Folgende Möglichkeiten stehen offen:

1. Zuführung natürlicher Östrogene.
2. Zuführung von synthetischen Östrogenen.

3. Zuführung von Östrogenen in Kombination mit anderen Hormonen.
4. Zuführung von Östrogenen in Kombination mit Tranquilizer oder Psychopharmaka.
5. Zuführung von biologischen Vorstufen der Östrogene.

Neben diesen kausalen Therapieformen fanden früher und finden zum Teil auch heute noch rein symptomatische Behandlungen Anwendung.

Die Behandlung mit natürlichen und synthetischen Östrogenen kann prinzipiell als gleichwertig hinsichtlich der Effektivität bezeichnet werden. Unterschiede zwischen den beiden Therapieformen bestehen aber hinsichtlich der Überschaubarkeit des Wirkungsspektrums.

Natürliche Östrogene setzen sich aus einer Vielzahl von Einzelsubstanzen zusammen, deren Wirkungs- und Nebenwirkungsspektrum nicht voneinander getrennt werden kann.

Synthetische Östrogene setzen sich dagegen im allgemeinen nur aus einer Wirksubstanz zusammen.

Die Kombination von Östrogenen mit anderen Hormonen, vornehmlich Anabolika, sollte heute auf Grund der möglichen Virilisierung durch die Androgenkomponente der Anabolika nur unter laufenden ärztlichen Kontrollen durchgeführt werden.

Die Kombination von Östrogenen mit Psychopharmaka mag in geeigneten Fällen zu einem besseren Therapieerfolg beitragen.

Die Behandlung mit Praekursoren der Östrogene befindet sich noch im Versuchsstadium, könnte aber ein wertvoller Beitrag in der Therapie des Menopausensyndroms werden.

Im vorliegenden Fall kam mit dem Zyklopenthyläther des Äthinylöstradiols ein synthetisches Östrogen zur Anwendung, dessen klinische Wirksamkeit aus der Literatur bekannt war. In Übereinstimmung damit konnte bei allen Patientinnen eine volle Remission der klimakterischen Ausfallserscheinungen erzielt werden.

Weiterhin zeichnet sich das Präparat durch eine ausgezeichnete allgemeine Verträglichkeit aus. Insbesondere traten keine Blutungen unter der Therapie auf. Lediglich nach Absetzen der hochdosierten Therapie, die jedoch für eine routinemäßige Therapie nicht in Frage kommt, kam es zu Abbruchblutungen.

In diesem Zusammenhang seien bezüglich des Patientengutes einige Bemerkungen erlaubt.

Das Intervall zwischen Menopause bzw. Verlust der Ovarialfunktion (Operation) und der Behandlung betrug 1 - 26 Jahre. Da alle Patientinnen zu Beginn der Behandlung über klimakterische Ausfallserscheinungen klagten, aber nur zum Teil be-

reits früher eine Östrogentherapie durchgeführt hatten (nach Absetzen einer derartigen Therapie ist auch zu einem späteren Zeitpunkt als dem Ende der Postmenopause durchaus noch mit Ausfallserscheinungen zu rechnen), muß der Begriff der Postmenopause hinsichtlich des klimakterischen Syndroms über die allgemein angenommenen 6 Jahre hinaus individuell erweitert werden.

Neben der klinischen Wirksamkeit schien es jedoch erforderlich, im Rahmen einer erweiterten pharmakologischen Definition dieses Präparates die hier aufgeführten Untersuchungen mit verschiedenen Dosierungen durchzuführen.
Wie in den Ergebnissen geschildert, kam es unter der Behandlung mit Quinestrol (Estrovis $^{(R)}$) zu einem Abfall der ausgangs erhöhten Gesamtgonadotropine. Sicherlich ist die hier durchgeführte Untersuchungsmethode nur ein grober Anhalt für die tatsächliche Hormonsituation, da es sich einerseits um eine biologische Bestimmungsmethode mit all ihren Fehlerquellen handelt, andererseits auf Grund der Bestimmung der Gesamtgonadotropine keine differenzierten Aussagen über Beteiligung und Wirkungsmechanismus der einzelnen gonadotropen Fraktionen möglich sind.
Die Methode ist jedoch für einen groben Anhalt der Hormon-

situation voll und ganz ausreichend, insbesondere dann, wenn, wie im vorliegenden Fall geschehen, auf den II. IRP, der eine HMG-Präparation hohen Reinheitsgrades darstellt, Bezug genommen wird.
Hierbei sei erwähnt, daß die notwendige Voraussetzung für eine exakte Hormonanalyse die genaueste Urinsammlung ist (12). Der Urin muß frei von evtl. störenden Medikamenten oder Verunreinigungen sein. Dies gilt in besonderem Maße für die Bestimmung der Östrogene. Um diese Fehlerquellen auszuschalten, standen unsere Patientinnen, wie bereits erwähnt, unter keiner weiteren Therapie. Außerdem wurden nur 24 Std.-Urine verwandt, die mittels Dauerkatheter unter stationären Bedingungen gesammelt wurden.

Das Zustandekommen der anfänglich hohen Gonadotropinwerte läßt sich auf den Ausfall des negativen Feed-back-Mechanismus im Östrogen-Gonadotropin-System beziehen. Bestärkt wird diese Annahme durch die Tatsache des signifikanten Abfalles der Gonadotropine unter der Östrogentherapie.
Primär scheint die erhöhte Gonadotropinausscheidung mit dem Zustandekommen des klimakterischen Ausfallserscheinungen nichts zu tun zu haben, wobei aber noch auszuschließen wäre, inwieweit derartige erhöhte Gonadotropine Wirkungen an der Nebennierenrinde entfalten können.

Die Möglichkeit einer adrenalen Gonadotropinwirkung ist verschiedentlich vermutet worden und konnte tierexperimentell im Sinne einer gesteigerten Sulfurylierungsaktivität im Verlauf der Steroidbiosynthese wahrscheinlich gemacht werden. Bekannt ist weiterhin, daß die Involution der Gonaden zeitlich mit einer zumindest funktionellen Involution der Nebennierenrinde zusammenfällt (44). Entsprechende Schlußfolgerungen lassen die hier beschriebenen Untersuchungen naturgemäß nicht zu.

Hinsichtlich der ovariellen Involution konnte durch Bestimmung der Gesamtöstrogene im Urin eine statistisch gesicherte Bestätigung erbracht werden. Mit zunehmendem Alter fand sich eine Abnahme der Östrogenausscheidung.

Die exogene Zufuhr von Östrogenen im Form des Quinestrols (Estrovis (R)) führte zu keiner Zunahme der Östrogenausscheidung, da Quinestrol offenbar nicht in die Farbreaktion nach ITTRICH eingeht.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Quinestrol in den angewandten Dosierungen eine signifikante antigonadotrope Wirkung entfaltet.

Bei der Beurteilung eines Östrogeneffektes am Scheidenepithel erhebt sich die Frage, inwieweit die klinischen Ergebnisse

mit den Ergebnissen der vaginalzytologischen Untersuchungen korrelierbar sind.

Ein Östrogeneffekt hinsichtlich der Proliferation läßt sich durch Anfertigung von Vaginalabstrichen im allgemeinen sehr leicht erfassen, zumindest leichter und schneller als durch Hormonanalysen.

Erschwerend wirkt sich jedoch die Tatsache aus, daß im Klimakterium eine Vielzahl von Proliferationsstufen gefunden werden können, ausgehend von völliger Atrophie bis zu mittelhoher Proliferation, die jedoch nicht mit dem klinischen Erscheinungsbild unmittelbar in Bezug gebracht werden können und außerdem die Auswertung hinsichtlich der Proliferationstendenz erheblich erschweren.

Wie in den vorliegenden Untersuchungen gezeigt werden konnte, läßt sich unter der therapeutischen Dosis von 25 µg/die Quinestrol eine deutliche Proliferation nachweisen. Eosinophilie und Kernpyknose werden ebenfalls verstärkt, aber weit geringer, so daß hier eine Überlappungszone mit dem Ausgangsbild vorhanden ist. Bei höherer Dosierung steigen Eosinophilie und Kernpyknose weiter an, jedoch ohne Korrelation zueinander und ohne Korrelation zum Proliferationsgrad. Vielmehr scheint für jeden einzelnen Index eine bestimmte Dosis zur

optimalen Ausbildung erforderlich. Das unterschiedliche Verhalten von Eosinophilie und Kernpyknose ist auch aus der Literatur bekannt (PUNDEL (38)). Eine derartige hinsichtlich Proliferation, Eosinophilie- und Kernpyknose-Index dissoziierte Östrogenwirkung ist sicherlich für jedes therapeutisch anzuwendende Östrogen individuell zu bestimmen. Für Quinestrol (Estrovis (R)) kann mit allen notwendigen Einschränkungen gesagt werden, daß bei therapeutischer Anwendung lediglich eine deutliche Proliferation zu erwarten ist. Das gelegentliche Auftreten einer gesteigerten Eosinophilie bzw. Kernpyknose kann allerdings nicht im Sinne einer Überdosierung bewertet werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Quinestrol (Estrovis (R)) in der therapeutischen Dosierung von 25 µg/die neben guter klinischer Wirksamkeit und Verträglichkeit eine deutliche antigonadotrope Wirkung am Vaginalepithel entfaltet. Die als Östrogen-spezifisch angesehene Steigerung des Eosinophilie- und Kernpyknose-Index tritt allerdings erst bei höheren Dosierungen auf.

VI. Zusammenfassung

Bei insgesamt 22 Patientinnen mit klimakterischen Ausfallserscheinungen wurde die Wirkung des 3-Zyklopenthyläthers des Äthinylöstradiol (Estrovis (R)) in den Dosierungen 25 µg, 50 µg und 100 µg/die untersucht.

Neben einer guten klinischen Wirksamkeit und Verträglichkeit konnte eine deutliche antigonadotrope Wirkung festgestellt werden. Daneben fand sich in niedriger Dosierung eine deutliche Proliferation des Vaginalepithels und in höherer Dosierung eine Steigerung des Eosinophilie-Index und des Kernpyknose-Index.

VII. Schrifttum

1. ALBERT, A. and DERNER, I.: Studies on the biologic characterization of human gonadotropins. VI. Nature and number of gonadotropins in human pregnancy urine.
J. clin. Endocr. Metab. 20: 1225 (1960)

2. ALBERT, A. and DERNER, I.: Contamination of gonadotropin standards.
J. clin. Endocr. Metab. 20: 1411 (1960)

3. APOSTOLAKIS, M.: Allgemeines zur quantitativen Bestimmung der Gonadotropine.
Ärztl. Lab. 10: 80 (1964)

4. APOSTOLAKIS, M. und VOIGT, K.D.: Gonadotropine.
G. Thieme Verlag, Stuttgart 1965.

5. ARTNER, J.: Klimakterische Beschwerden als Funktionsstörung.
Wien. med. Wschr. 117: 513 (1967)

6. ASCHHEIM, S. und ZONDEK, B.: Hypophysenvorderlappen. hormon und Ovarialhormon im Harn von Schwangeren.
Klin. Wschr. 6: 1322 (1927)

7. ASCHHEIM, S. und ZONDEK, B.: I. Die Schwangerschaftsdiagnose aus dem Harn durch Nachweis des Hypophysenvorderlappenhormons.
II. Praktische und theoretische Ergebnisse aus den Harnuntersuchungen.
Klin. Wschr. 7: 1453 (1928)

8. BAHNER, F.: Endokrinologische und Stoffwechselstörungen im Klimakterium.
Internist 7: 315 (1966)

9. BICKENBACH, W. und HESS, M.: Über das Klimakterium und die Behandlung klimakterischer Beschwerden.
Dtsch. med. Wschr. 74: 876 (1949)

10. BLOBEL, R.: Über das Choriongonadotropin.
S. Karger Verlag, Basel-New York, 1966

11. BROWN, P.S.: The assay of gonadotropin from urin of non-pregnant human subjects.
J. Endocr. 13: 59 (1955)

12. BUCHHOLZ, R.: Untersuchungen über die Beeinflussung der Gonadotropinausscheidung beim Menschen durch Keimdrüsenhormone.
6. Symp. Dtsch. Ges. Endokrinol., Kiel, 28.-30.4.1959;
Geburtsh. Frauenheilk. 19: 851 (1959)

13. CHROBAK, R.: Über Einverleibungen von Eierstocksgeweben.
Zbl. Gynäk. 20: 521 (1896)

14. DOCUMENTA GEIGY: Wissenschaftliche Tabellen. S. 160.
7. Auflage, 1968

15. GOECKE, H.: Die Klinik des Klimakteriums.
Arch. Gynäk. 193: 33 (1959)

16. GREEP, R.O.; VAN DYKE, H.B. and CHOW, B.F.: Gonadotropins of the swine pituitary.
J. Endocr. 30: 635 - 649 und 650 - 656 (1942)

17. HANKIN, H.: Quinestrol-Behandlung des klimakterischen Syndroms.
J. Int. Fertil. 12: 229 (1967)

18. HAUSER, G.A. und WENNER, R.: Das Klimakterium der Frau.
Med. Kinderheilk. 16: 125 (1961)

19. HEINEN, G. und SIEGEL, P.: Die Wirkung von konjugierten Östrogenen auf die Vaginal- und Uterusschleimhaut.
Dtsch. med. Wschr. 91: 1553 (1966)

20. HELLER, C.; CHANDLER, G. and MYERS, E.: Effect of small and large doses of diethylstilbestrol upon menopausal symptoms, vaginal smear and urinary gonadotrophins in 23 oophorectomized women.
J. clin. Endocr. 4: 109 (1944)

21. HERMANN, K.: Der zytologische Abstrichtyp bei Frauen mit klimakterischen Beschwerden.
Gynäkologia 144: 303 (1957)

22. HÖRMANN, G. und KLOSS, W.: Das Klimakterium in der Sicht des Gynäkologen.
Internist 7: 321 (1966)

23. HOFF, F.: Klimakterium und innere Medizin.
Arch. Gynäk. 193: 12 (1959)

24. HOFFMANN, F.: Sexualhormontherapie in der Gynäkologie.
J.A. Barth Verlag, Leipzig, 1959

25. ITTRICH, G.: Eine neue Methode zur chemischen Bestimmung der östrogenen Hormone im Harn.
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chemie
312: 1 (1958)

26. JUNKMANN, K. und HOHLWEG, W.: Die hormonal-nervöse Regulation der Funktion des Hypophysenvorderlappens.
Klin. Wschr. 11: 321 (1932)

27. KAISER, R. und DAUME, E.: Über eine einheitliche Nomenklatur für das Klimakterium und seine Begleitsymptome.
Geburtsh. Frauenheilk. 25: 974 (1965)

28. LAURITZEN, C.: Methoden, Möglichkeiten und klinische Bedeutung von Gonadotropinbestimmungen. Teil I und II.
Med. Klinik 58: 822 - 826 und 863 - 866 (1963)

29. LIMBURG, H.: Die Bedeutung spontaner Östrogenbildung in der Menopause.
Arch. Gynäk. 180: 260 (1951)

30. LORAINE, J.A. and BROWN, J.B.: Some observations of the estimation of gonadotrophins in human urine.
Acta endocrin. 17: 250 (1954)

31. LORAINE, J.A. and DICZFALUSY, E.: The effect of prolactin on urinary gonadotropine assays.
J. Endocr. 17: 425 (1958)

32. LORAINE, J.A. and BROWN, J.B.: A method for the quantitative determination of gonadotrophins in the urine of nonpregnant human subjects. J. Endocr. 18: 77 (1959)

33. McCANN, S.M. and TALEISNIK, S.: Effect of luteinizing hormon and vasopressin on ovarian ascorbic acid. Amer. J. Physiol. 199: 847 (1960)

34. MEHRING, W. und HEINEN, G.: Zur Behandlung des klimakterischen Syndroms mit einem neuen Östrogen. Med. Klinik 35: 1385 (1968)

35. OERTEL, G.W.: Chemische Bestimmungen von Steroiden im menschlichen Harn. Seite 15 - 18. Springer Verlag, Berlin 1964.

36. PARLOW, A.F.: A rapid biossay method for LH and factors stimulating LH secretion. Fed. Proc. 17: 402 (1958)

37. PSCHYREMBEL, W.: Praktische Gynäkologie. 4. Auflage. W. de Gruyter Verlag, Berlin 1968.

38. PUNDEL, J.P.: Cytological criteria of estrogen effect. Acta cytol. 2: 353 (1958)

39. ROSEMBERG, E.: Urinary gonadotropin excretion measured by the mouse uterine response, employing estrone as the standard reference material. J. clin. Endocr. Metab. 20: 360 (1960)

40. ROSEMBERG, E. and ENGEL, I.: Comparative activities of urinary gonadotropin preparations from postmenopausal women. J. clin. Endocr. Metab. 21: 603 (1961)

41. ROSEMBERG, E. and ENGEL, I.: Comparative activities of two gonadotropin preparations from the urine of postmenopausal women. J. clin. Endocr. Metab. 21: 1063 (1961)

42. ROTH, F.: Die Klinik des normalen Klimakteriums. Gynäkologia 143: 305 (1957)

43. SANDS, R.X.: Quinestrol und das klimakterische Syndrom. J. Int. Fertil. 12: 235 (1967)

44. SIMON, A.: Untersuchungen über den Plasmaspiegel von Dehydroepiandrosteron bei Patientinnen mit klimakterischen Beschwerden. Inauguraldissertation, Homburg 1969

45. STAEMMLER, H.J.: Fibel der gynäkologischen Endokrinologie. G. Thieme Verlag, Stuttgart 1969

46. STEELMAN, S.L. and POHLEY, F.M.: Assay of the follicle stimulating hormone based on augmentation with human chorionic gonadotropins.
Endocrinology 53: 604 (1953)

47. UFER, J.: Hormontherapie in der Frauenheilkunde. 3. Auflage.
W. de Gruyter Verlag, Berlin 1966.

48. VOSS, H.E.: Die Hormone des Hypophysenvorderlappens.
In: AMMON, R. und DIRSCHERL, W.: Fermente, Hormone, Vitamine. Bd. 2; Seite 525-663.
G. Thieme Verlag, Stuttgart 1960.

49. WEIHS, D.E.: Les gonadotropins. Connaissances actuelles méthodes dèxtraction. Essays des dosages cliniques.
Mèm. Soc. Vaudoise d. Sciences Nat. 13: 23 (1963)

50. WIED, G.L.: Der zytologische Abstrichtyp der Patientin mit klimakterischen Ausfallserscheinungen.
Zbl. Gynäk. 75: 1578 (1953)

51. ZARATE, A. und GREENBLATT, R.B.: Quinestrol im Klimakterium.
J. Int. Fertil. 12: 233 (1967)

52. ZONDEK, B.: Hormonale Schwangerschaftsreaktionen aus dem Harn bei Mensch und Tier.
Klin. Wschr. 9: 2285 (1930)

Herrn Professor Dr. med. H. Limburg, Direktor der Universitäts-Frauenklinik Homburg, danke ich für die Überlassung des Themas.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. G. Heinen, leitender Oberarzt der Universitäts-Frauenklinik Homburg, für die Anleitung und seine freundliche Hilfe bei der Ausführung der Arbeit.

Herrn Professor Dr. Dr. Dipl. Chem. W. Zimmermann, Direktor des Instituts für Hygiene und Mikrobiologie der Universität des Saarlandes Homburg, danke ich für seine freundliche Unterstützung bei der Ausführung der Hormonanalysen in seinem endokrinologischen Labor.

Herrn Dr. M. Augustin, Oberarzt der Universitäts-Frauenklinik Homburg, danke ich für die Hilfe bei der Auswertung der Vaginalzytologie.

Besonders danken möchte ich auch Herrn Dr. W. Rindt, Assistent der Universitäts-Frauenklinik Homburg, für seine zahlreichen Anregungen und Ratschläge bei der Ausführung der Arbeit.

Weiterhin möchte ich Fräulein M. Hirsch für ihre wertvolle Hilfe bei der Ausführung der hormonanalytischen Untersuchungen danken.

Lebenslauf

Am 26. 7. 1942 wurde ich als Sohn des ltd. Ministerialrates Helmuth Dunkmann und seiner Ehefrau Edith, geb. Gerling, in Hagen/Westfalen geboren.

Von 1948 bis 1952 besuchte ich die Schnellmarkschule in Gevelsberg, anschließend das Städtische Gymnasium Gevelsberg, an dem ich 1963 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1963 begann ich das Studium der Medizin an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken. Ende des Sommersemesters 1964 bestand ich den naturwissenschaftlichen Teil der ärztlichen Vorprüfung und im Wintersemester 1967 die ärztliche Vorprüfung in Homburg-Saar.

Das Staatsexamen lege ich zur Zeit an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes in Homburg-Saar ab.